

Poligalacturonasa *FaPG1* y CRISPR/Cas9: Editando la firmeza del fruto de fresa

Gloria LÓPEZ-CASADO⁽¹⁾, Estrella SALCEDO⁽¹⁾, Pablo RIC-VARAS⁽¹⁾, Antonio J. MATAS⁽¹⁾, José A. MERCADO⁽¹⁾

¹Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora” (IHSM-UMA-CSIC),
Departamento de Biología Vegetal, Universidad de Málaga, 29071 Málaga

Email de contacto: mercado@uma.es

El uso de la técnica CRISPR/Cas9 para la edición de genomas vegetales ha sido ampliamente estudiado y referido en los últimos años. En trabajos recientes, se ha empleado esta técnica para mejorar la vida postcosecha y características organolépticas de frutos modelo como el tomate; sin embargo, los trabajos de edición génica en otros frutos como la fresa son muy escasos. Los cambios en las características y/o composición de las paredes celulares durante la maduración son el principal factor que contribuye a la pérdida de la firmeza del fruto. Estos cambios están promovidos por la inducción de genes que codifican enzimas modificadoras de los polímeros de la pared celular. En el caso de la fresa, trabajos anteriores demostraron que el silenciamiento de genes de poligalacturonasa alarga la vida postcosecha del fruto. En este trabajo se ha evaluado el efecto de la edición del gen de poligalacturonasa *FaPG1* mediante el sistema CRISPR/Cas9 en fresa, con el fin último de desarrollar plantas editadas no transgénicas con una vida postcosecha más larga. Para ello, se diseñaron cebadores para amplificar el RNA guía específico para este gen utilizando la aplicación <http://crispr.hzau.edu.cn/CRISPR2/> y el genoma de *F. vesca* v4.0 como referencia. Se transformaron discos de hoja del cv. Chandler mediante *A. tumefaciens* portando el vector binario pDe-CAS9 que contiene la secuencia codificante de Cas9 y el gen *bar* para selección en fosfinotricina. Se obtuvieron un total de 40 líneas transgénicas independientes. En el 50% de las plantas analizadas, se comprobó la edición del gen diana mediante el ensayo de la endonucleasa T7. Los productos de amplificación para la zona editada están siendo secuenciados mediante la plataforma Illumina para determinar los patrones de edición que han tenido lugar. Estas líneas serán aclimatadas para su posterior cultivo y evaluación fenotípica en invernadero.

Proyecto AGL2017-86531-C2-1-R

Áreas temáticas Nº 1, 2